复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率、血清生化指标和肠道黏膜形态的影响

谢文惠　姜　宁　王　鑫　张爱忠*

（黑龙江八一农垦大学动物科技学院，大庆 163319）

摘　要：本试验旨在研究不同配比的复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率、血清生化指标和肠道黏膜形态的影响。选用 320 只 1 日龄健康的雄性爱拨益加（AA）肉仔鸡，随机分为 4 组，每组 4 个重复，每个重复 20 只。Ⅰ组为对照组，饲喂基础饲粮；Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组为试验组，饲喂基础饲粮+1 000 mg/kg 复合益生菌制剂，复合益生菌制剂中枯草芽孢杆菌：酿酒酵母：嗜酸乳杆菌：乳双歧杆菌分别为 2:1:1:1、1:2:1:1、1:1:1.5:1.5。试验期 42 d。结果表明：1）Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组的干物质、粗蛋白质、粗脂肪和钙的表观利用率均显著高于对照组（P<0.05）；2）在 42 日龄时，Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组血清总蛋白含量显著高于对照组（P<0.05）。3）Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组十二指肠、空肠和回肠的绒毛高度、隐窝深度和绒腺比均优于对照组（P>0.05）。由此可知，在基础饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂均可改善肉仔鸡的养分表观利用率、血清生化指标和肠道黏膜形态。

关键词：复合益生菌制剂；养分表观利用率；血清生化指标；肠道黏膜形态；肉仔鸡

中图分类号：S816　　文献标识码：A　　文章编号：

复合益生菌制剂是由对动物机体有益的单体活性微生物制成的复合生物活性制剂，在畜禽生产中，复合益生菌制剂不仅能促进动物生长发育，还能改善动物肠道菌群平衡，提高饲料利用率和动物免疫力，复合益生菌制剂菌种主要包括芽孢杆菌类、乳酸菌类、肠球菌类和酵母菌类几种。其中枯草芽孢杆菌作为一种新型的表达载体，它可以表达酶类和生长因子等多种蛋白[1]，是分子微生物学研究中常用的基因工程菌。孙锡凤[2]研究表明，在基础饲粮中添

收稿日期：2017-09-30
基金项目：国家自然科学基金项目（31472120）；黑龙江八一农垦大学重点培育课题（XA2015-02）
作者简介：谢文惠（1992-），女，江西九江人，硕士研究生，从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 228998379@qq.com
*通信作者：张爱忠，教授，博士生导师，E-mail： aizhzhang@sina.com

加不同浓度的复合益生菌（主要由海洋红酵母菌BSH、枯草芽孢杆菌和乳酸菌组成），肉鸡的平均日增重和日采食量显著提高，能量、干物质、粗蛋白质和粗脂肪的表观利用率显著提升，小肠的形态结构得到改善，各肠段的绒腺比（V/C）显著上升。赵建文等[3]研究发现，在基础饲粮中添加复合菌制剂（主要由乳酸杆菌和芽孢杆菌组成），可以在一定程度上降低鸡舍氨气浓度，使机体血液中总蛋白和球蛋白含量升高，同时可以增强机体体液免疫能力，但对细胞免疫的影响效果不显著。栾超[4]利用小泛素相关修饰物（small ubiquitin-related modifier，SUMO）融合技术在枯草芽孢杆菌中表达出了抗菌肽Cathelicidin-BF(CBF)，后续研究表明抗菌肽CBF不仅具有高效的广谱抗菌活性和免疫调节功能，而且安全性好、不易产生耐药性，是良好的新型抑菌物质。本实验室采用蝇蛆抗菌肽的基因片段，通过重叠延伸PCR法融合到枯草芽孢杆菌工程菌中表达出了含抗菌肽的枯草芽孢杆菌基因工程菌[5]。目前在畜禽方面关于单独使用益生菌或抗菌肽的研究较多，未见益生菌与含抗菌肽的基因工程菌联合应用于肉鸡生产的报道。因此，本试验以含有抗菌肽的枯草芽孢杆菌基因工程菌与酿酒酵母、嗜酸乳杆菌、乳双歧杆菌组成的复合益生菌为试验材料，将前期人工模拟胃肠道消化液耐受性试验所确定的3种不同配比的复合益生菌制剂分别加入到肉仔鸡基础饲粮中，观察其对肉仔鸡养分表观利用率、血清生化指标和肠道黏膜形态的影响，探寻最佳复合益生菌制剂配比，为复合益生菌制剂在肉鸡产业链中的现实推广应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用益生菌制剂均为固体粉末，其中枯草芽孢杆菌活菌数为 9.00×10^{8} CFU/g，酿酒酵母活菌数为 4.00×10^{8} CFU/g，嗜酸乳杆菌活菌数为 1.00×10^{10} CFU/g，乳双歧杆菌活菌数为 1.00×10^{10} CFU/g。乳双歧杆菌由陕西森弗生物技术有限公司提供，枯草芽孢杆菌、酿酒酵母和嗜酸乳杆菌均为本实验室制备，其中枯草芽孢杆菌为含抗菌肽的枯草芽孢杆菌基因工程菌，它是以重叠延伸 PCR 原理为基础，设计 2 对 4 条引物合成抗菌肽基因，每条抗菌肽基因都要

经过 2 步重叠延伸完成，回收最后一次 PCR 产物与 pMD18-T Vector 相连，成功构建克隆载体 pMD18-T/CC34；选择表达载体 pHT43 构建重组表达载体，将表达载体转化到枯草芽孢杆菌 WB800N 中，得到基因工程菌 pHT43/CC34/WB800N；在 LB 培养基中，经异丙基硫代半乳糖苷（IPTG）刺激表达，成功表达出了杂合抗菌肽 CC34，表达产物采用高效液相色谱（HPLC）法纯化蛋白，纯化后的蛋白利用质谱（MS）法鉴定为目的蛋白，分子质量为 3.7 ku，且表达量为 31.98 mg/L；同时，通过抑菌圈法与最小抑菌浓度（MIC）及最小杀菌浓度（MBC）相结合检测出抗菌肽对致病菌具有抑菌效应[5]。

1.2 试验动物及基础饲粮

试验动物选取 1 日龄健康的雄性爱拨益加（AA）肉仔鸡，购自吉林省德惠市某孵化场。

本试验所用基础饲粮依照 NRC（1994）肉鸡饲养标准，并结合我国《鸡饲养标准》（NY/T 33-2004）配制，其组成及营养水平见表 1。饲料原料购于大庆禾丰八一农大动物科技有限公司，饲粮形态为粉状料，由本实验室粉碎及搅拌混合而成。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content	
	1~21 日龄 1 to 21 days of age	22~42 日龄 22 to 42 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	55.75	62.00
豆粕 Soybean meal	35.00	25.70
鱼粉 Fish meal	3.00	7.00
大豆油 Soybean oil	3.00	2.50
食盐 NaCl	0.30	0.20

石粉 Limestone	1.00	1.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.50	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.15	0.10
矿物质预混料 Mineral premix1)	0.10	0.20
复合多维 Multi-vitamins2)	0.20	0.30
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels3)		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.47	12.73
粗蛋白质 CP	21.42	20.46
钙 Ca	1.01	1.04
有效磷 AP	0.46	0.48
赖氨酸 Lys	1.22	1.18
蛋氨酸 Met	0.35	0.38

1)矿物质预混料为每千克饲粮提供 The mineral premix provided the following per kg of diets:1~21 日龄 1 to 21 days of age，Cu （$CuSO_4 \cdot 5H_2O$） 16 mg，Fe （$FeSO_4 \cdot 7H_2O$） 100 mg，Zn （$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$） 90 mg，Mn （$MnSO_4 \cdot H_2O$） 130 mg，Se （Na_2SeO_3） 2 mg，$Ca(IO_3)_2$ 2 mg，$Ca_3(PO_4)_2$ 0.4 mg；22~42 日龄 22 to 42 days of age，Cu（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）32 mg，Fe（$FeSO_4 \cdot 7H_2O$）200 mg，Zn（$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$）180 mg，Mn（$MnSO_4 \cdot H_2O$）260 mg，Se （Na_2SeO_3） 4 mg，$Ca(IO_3)_2$ 4 mg，$Ca_3(PO_4)_2$ 0.8 mg。

2)维生素预混料为每千克饲粮提供 The multi-vitamins provided the following per kg of diets:1~21 日龄 1 to 21 days of age，VA 80 000 IU，VD_3 22 000 IU，VE 160 IU，VK_3 24 mg，VB_1 20 mg，VB_2 44 mg，VB_6 30 mg，VB_{12} 0.2 mg，叶酸 folic acid 8 mg，生物素 biotin 0.6 mg，烟酰胺 niacinamide 200 mg，泛酸钙 pantothenic acid 100 mg，抗氧化剂 antioxidant 1 mg；22~42 日龄 22 to 42 days of age，VA 120 000 IU，VD_3 33 000 IU，VE 240 IU，VK_3 36 mg，VB_1 30 mg，VB_2 66 mg，VB_6 45 mg，VB_{12} 0.3 mg，叶酸 folic acid 12 mg，生物素 biotin 0.9

mg，烟酰胺 niacinamide 300 mg，泛酸钙 pantothenic acid 150 mg，抗氧化剂 antioxidant 1.5 mg。

3)代谢能为计算值，其余为实测值。ME was a calculated value, while the other nutrient levels were measured values.

1.3 试验设计

本试验使用单因素完全随机试验设计，选用 320 只 1 日龄健康的雄性爱拔益加（AA）肉仔鸡，随机分为 4 组，每组 4 个重复，每个重复 20 只，各组试鸡体重差异不显著（*P*>0.05）。Ⅰ组为对照组，饲喂基础饲粮；Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组为试验组，饲喂基础饲粮+1 000 mg/kg 复合益生菌制剂，复合益生菌制剂中枯草芽孢杆菌：酿酒酵母：嗜酸乳杆菌：乳双歧杆菌分别为 2:1:1:1、1:2:1:1 和 1:1:1.5:1.5。试验期为 42 d。

1.4 饲养管理

进雏鸡前对鸡舍实施无死角冲洗、消毒。由于是春季饲养，鸡舍进雏前 2 天开始预热升温。在试验雏鸡到达 2 h 之内，采用低浓度（5%）的葡萄糖水溶液进行开饮，水温适中。试验鸡采用笼养方式进行饲养，1~21 日龄饲养密度为 20 只/m^2，22~42 日龄饲养密度为 10 只/ m^2，自由饮水和自由采食。舍内温度、湿度和光照时间按照常规饲养管理要求进行严格控制，保证良好通风。每日换水前对水槽进行清洗以及杀菌消毒，试验期间饮用凉开水。按常规免疫程序对雏鸡进行新城疫及法氏囊免疫。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 养分表观利用率的测定

于饲养试验第35天，从各组每个重复中随机挑选1只体况良好、体重相近的肉仔鸡，单笼饲养，进行全收粪代谢试验。于饲养试验第37天20：00代谢鸡开始禁食，以消除肉仔鸡肠道内容物对代谢试验的影响，禁食期间自由饮水，其他饲养条件不变。于饲养试验第39天08:00开始为期3 d的全收粪代谢试验，在此期间准确记录采食量，每天定时收取全部排泄物(注意剔除毛屑杂物)，收集后按每100 g排泄物加10%盐酸10 mL，然后立即置于-20 ℃冰箱保存。饲养

试验最后1天晚上对代谢鸡进行绝食代谢，排泄物收集完毕后，将其解冻混匀，并在65 ℃条件下烘干至恒重，室温回潮24 h后称重，再粉碎过40目筛，装袋密封，以便后续试验分析使用。

按照常规方法测定饲粮和排泄物中的各养分含量，干物质含量采用103~105 ℃烘干失重法（GB/T 6435—2014）测定，粗灰分含量采用高温灼烧法（GB/T 6438—2007）测定，粗蛋白质含量采用半微量凯氏定氮法（GB/T 6432—1994）测定，粗脂肪含量采用索氏抽提法（GB/T 6433—2006）测定，粗纤维含量采用过滤法（GB/T 6434—2006）测定，钙含量采用高锰酸钾滴定法（GB/T 6436—2002）测定，磷含量采用分光光度计法（GB/T 6437—2002）测定[6]。

养分表观利用率的计算公式如下：

养分表观利用率(%)=100×（养分食入量－排泄物中养分量）/养分食入量。

1.5.2 血清生化指标的测定

分别在21日龄和42日龄时，从各组每个重复中随机选取3只肉仔鸡，心脏采集血样5 mL，经3 000 r/min离心10 min，分离血清于1.5 mL EP管中，-20 ℃冷冻保存备测。使用试剂盒测定血清中总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）含量与和尿素氮（UN）浓度及谷丙转氨酶（ALT）活性，测定方法严格按照所购试剂盒说明书进行，试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.5.3 肠道黏膜形态的测定

于饲养试验第42天，从各组每个重复中随机挑选3只体况良好、体重相近的肉仔鸡，屠宰后立即取出完整肠道，将各肠道剖开分离，取十二指肠、空肠和回肠中部各2~3 cm，用装有0.9%生理盐水的洗瓶将肠道食糜轻轻冲净，置于10%中性甲醛溶液中固定24 h后，采用常规苏木精-伊红（HE）对小肠组织进行染色处理，制成石蜡切片。在光学显微镜低倍镜（40倍）下用ML-50显微图像采集分析系统分别在十二指肠、空肠和回肠的组织切片上随机选择多个非连续性视野观察切片，并挑选典型视野拍摄成图片，测量小肠绒毛高度和隐窝深度，取其平均值作为固定数据，并计算绒腺比。

1.6 数据统计与处理

本试验中，养分表观利用率以重复为单位，对每组共 4 个平均值进行统计分析，血清生化指标和肠道黏膜形态以每组 12 个样本进行统计分析，数据经 Excel 2007 表格进行初步统计与整理，运用 SAS 8.0 软件开展单因素方差分析（one-way ANOVA），运用 Duncan 氏法进行显著性分析，结果均以“平均值±标准差”表示。以 P<0.05 为显著水平。

2 结果与分析

2.1 复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率的影响

由表 2 可知，各组间粗纤维和磷的表观利用率差异不显著（P>0.05）；与对照组相比，II 组、III组和Ⅳ组的干物质、粗蛋白质、粗脂肪和磷的表观利用率均显著提高（P<0.05），其中干物质表观利用率分别提高了 1.83%、1.95%和 1.43%，粗蛋白质表观利用率分别提高了 6.75%、8.60%和 5.25%，粗脂肪观利用率分别提高了 9.64%、13.89%和 10.15%，钙表观利用率分别提高了 14.70%、15.19%和 14.24%。

表 2 复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率的影响

Table 2 Effects of compound probiotics on nutrient apparent availability of broilers %

项目	组别 Groups				*P* 值
Items	I	II	III	Ⅳ	*P*-value
干物质 DM	74.73±0.46^{b}	76.10±0.25^{a}	76.19±0.68^{a}	75.80±0.50^{a}	0.004 8
粗蛋白质 CP	56.61±1.29^{b}	60.43±0.85^{a}	61.48±1.18^{a}	60.15±2.15^{a}	0.002 6
粗脂肪 EE	68.47±2.36^{b}	75.07±3.66^{a}	77.98±3.65^{a}	75.42±2.49^{a}	0.006 1
粗纤维 CF	18.61±3.12	19.37±1.36	22.00±6.20	21.85±7.66	0.731 3
钙 Ca	46.07±2.47^{b}	52.84±4.40^{a}	53.07±2.17^{a}	52.63±3.86^{a}	0.032 4
磷 P	37.37±4.71	43.71±4.30	44.93±3.79	44.78±3.72	0.062 0

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（P>0.05），不同字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2 复合益生菌制剂对肉仔鸡血清生化指标的影响

由表 3 可知，在 21 日龄时，各组血清总蛋白、白蛋白含量与氨态氮浓度及谷丙转氨酶活性均差异不显著（P>0.05）。在 42 日龄时，各组血清白蛋白含量、氨态氮浓度及谷丙转氨酶活性差异不显著（P>0.05）；与对照组相比，Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组血清总蛋白含量显著提高（P<0.05），分别提高了 13.84%、14.79%和 14.04%。

表 3　复合益生菌制剂对肉仔鸡血清生化指标的影响

Table 3　Effects of compound probiotics on serum biochemical indexes of broilers

项目 Items	日龄 Days of age	组别 Groups				P 值 P-value
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	
总蛋白	21	24.60±1.77	26.94±3.81	26.53±4.40	26.35±3.72	0.397 2
TP/（g/L）	42	25.15±2.56[b]	28.63±3.18[a]	28.87±4.09[a]	28.68±4.26[a]	0.040 6
白蛋白	21	17.01±3.02	18.42±3.63	18.30±4.60	18.16±4.33	0.806 1
ALB/（g/L）	42d	17.47±2.14	19.79±2.15	19.94±3.51	19.70±2.20	0.070 7
谷丙转氨酶	21	5.21±1.73	4.38±1.80	4.25±1.89	4.46±2.09	0.652 0
ALT/（U/L）	42	5.21±2.37	4.59±1.43	4.54±1.39	4.63±2.46	0.820 0
尿素氮	21	0.71±0.15	0.56±0.17	0.55±0.20	0.58±0.15	0.113 6
UN/（mmol/L）	42	0.68±0.18	0.52±0.25	0.50±0.24	0.52±0.26	0.205 2

2.3 复合益生菌制剂对肉仔鸡肠道黏膜形态的影响

由表 4 可知，Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组十二指肠、空肠和回肠的绒毛高度、隐窝深度和绒腺比

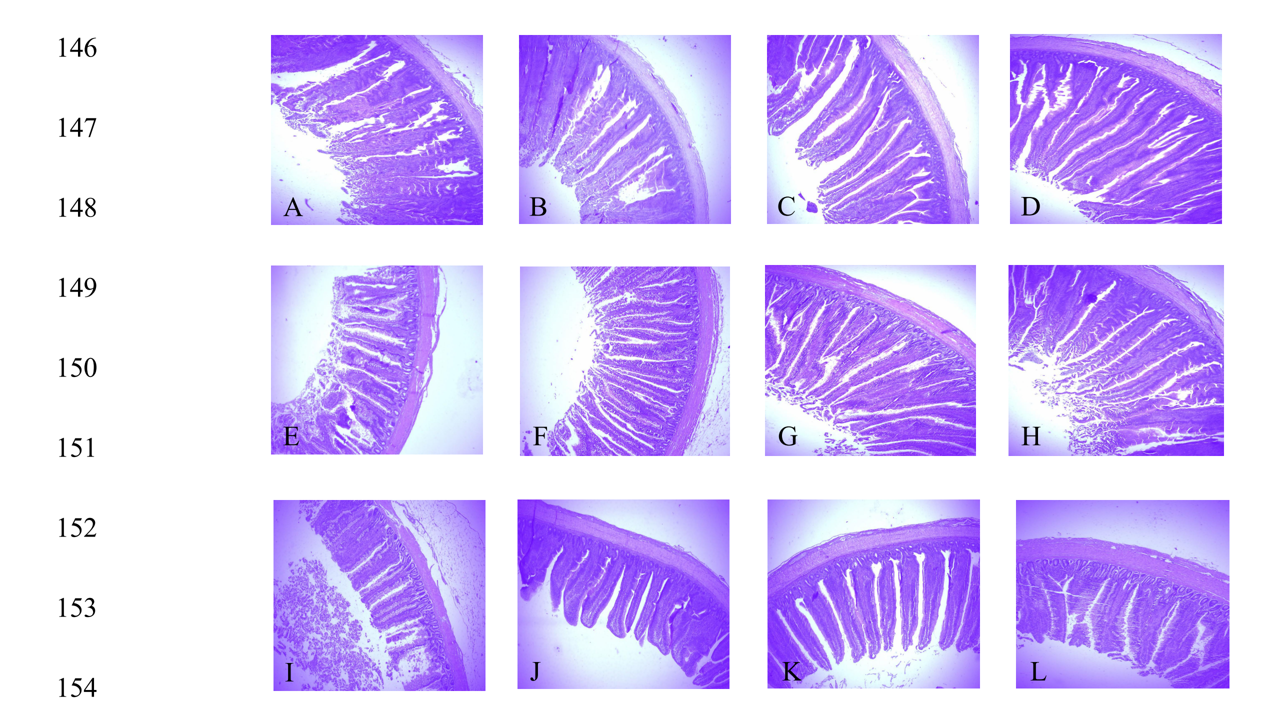
均优于对照组，但差异不显著（P>0.05）。

表 4 复合益生菌制剂对肉仔鸡肠道黏膜形态的影响

Table 3 Effects of compound probiotics on intestinal mucosal morphological structure of broilers

项目 Items	指标 Indexes	组别 Groups I	II	III	IV	P 值 P-value
十二指肠 Duodenum	绒毛高度 Villus height/μm	979.58 ±247.38	1 162.75 ±203.52	1 162.47 ±171.80	1 146.42 ±176.39	0.239 2
	隐窝深度 Crypt depth/μm	96.61 ±17.09	95.61 ±22.57	95.72 ±27.19	93.64 ±19.44	0.989 4
	绒腺比 V/C	10.25 ±2.45	12.85 ±3.73	12.74 ±2.72	12.65 ±2.99	0.119 3
空肠 Jejunum	绒毛高度 Villus height/μm	925.22 ±194.83	1043.62 ±290.12	1044.28 ±123.99	1047.08 ±191.97	0.407 2
	隐窝深度 Crypt depth/μm	85.81 ±12.68	85.25 ±18.45	84.42 ±21.35	83.08 ±19.91	0.985 1
	绒腺比 V/C	10.78 ±1.58	12.45 ±3.24	12.84 ±2.44	13.19 ±3.83	0.197 9
回肠 Ileum	绒毛高度 Villus height/μm	738.44 ±228.92	805.36 ±170.76	874.67 ±248.43	838.22 ±220.15	0.480 0
	隐窝深度 Crypt depth/μm	81.58 ±20.65	81.22 ±21.46	79.22 ±14.91	81.39 ±18.84	0.989 4
	绒腺比 V/C	9.49 ±3.21	10.52 ±3.48	11.23 ±3.07	10.43 ±2.45	0.820 0

图 1 显示的是各组肉仔鸡十二指肠、空肠和回肠的肠黏膜形态结构。从图中可以看出，对照组有的肠绒毛顶端上皮细胞脱落，而 II 组、III组和IV组肠绒毛都较长，其完整性也更好。



A、B、C、D 分别为 I 组、II 组、III组、IV组的十二指肠切片，E、F、G、H 分别为 I 组、II 组、III组、IV组的空肠切片，I、J、K、L 分别为 I 组、 II 组、III组、IV组的回肠切片。

A, B, C and D were duodenum slices of groups Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ; E, F, G and H were jejunum slices of groups Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ; I, J, K and L were ideal slices of groups Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ.

图 1　肉仔鸡肠组织结构图

Fig. 1　Intestinal tissue structure graphs of broilers (40×)

3　讨　论

3.1　复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率的影响

养分表观利用率是作为衡量畜禽是否能够充分利用饲粮营养价值的最重要的指标之一，也是评价肉仔鸡机体健康的最直观的试验结果，它受到饲粮营养水平、饲料加工工艺、动物生长阶段以及动物肠道健康状况等因素的影响[7]。复合益生菌制剂进入畜禽肠道后，各菌种制剂之间、菌种制剂与肠道微生物之间以及菌种制剂与宿主之间可以产生协同共生、优势互补

的作用[8]。孙锡风等[9]研究发现，在肉鸡饲粮中添加不同浓度复合益生菌组与对照组相比，肉鸡前期和后期能量、粗蛋白质、干物质和粗脂肪的表观利用率均有不同程度的提高。Mountzouris等[10]研究表明，在肉鸡基础饲粮中添加复合益生菌可以提高肉鸡对某些养分的消化率。

本试验结果表明，在饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂后，与对照组相比，Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组肉仔鸡对饲粮中养分的表观利用率均有不同程度的提高，因为复合益生菌和含有抗菌肽的基因工程菌以及其所产生的各种代谢产物和抗菌肽，可以改善肠道内微生态环境，有助于消化利用饲粮的营养物质。枯草芽孢杆菌会调节机体氮代谢的关键限速酶如黄嘌呤氧化酶和谷氨酰胺合成酶，从而调节机体的氮代谢[11]，其还有较强的生物夺氧能力[12]，为肠道内有益菌和共同添加的乳酸杆菌、双歧杆菌和酵母菌提供有利环境，从而产生协同共生、优势互补的作用，加上本试验用的是能分泌抗菌肽的枯草芽孢杆菌基因工程菌，其所分泌的抗菌肽能够抑制和减少肠道内有害菌的增殖。酿酒酵母细胞原生质中含有丰富的核苷酸和必需氨基酸（尤其是赖氨酸），其还含有丰富的消化酶，能够促进肠道对大分子营养物质的消化吸收；酿酒酵母细胞壁中的多糖主要由β-1,3-葡聚糖和甘露寡糖（MOS）组成[13]，这2种多糖进入小肠后能被双歧杆菌产生的酶分解而成为双歧杆菌的碳源，促进双歧杆菌的增殖，酸化肠道环境，降低肠道还原电位，抑制有害菌生长。乳酸菌和双歧杆菌是动物肠道内主要维持微生物区系平衡的菌群，还能代谢产生有机酸，促进肠道蠕动和消化液分泌，有利于养分的消化吸收，并且这种偏酸环境也有利于被结合或螯合的矿物质元素以游离态释放，从而提高钙、磷等的利用率。其中Ⅲ组肉仔鸡对饲粮中各养分的表观利用率最高，可能是因为本试验采用的是粉状饲料，与以酿酒酵母为主的复合益生菌制剂充分混合，肉仔鸡采食之后，在胃肠道中酵母菌发挥发酵特性，将饲粮中营养物质进行分解、转化和合成，生成肉仔鸡机体所需要的酶、菌体和各种代谢产物，从而提高肉仔鸡对饲粮中养分的利用率。

3.2　复合益生菌制剂对肉仔鸡血清生化指标的影响

血液是机体内环境的重要组成部分，是物质交换与代谢的主要场所，其指标的变化受到肉仔鸡生长发育状态、营养水平以及自身分泌情况等因素的影响，只有当血液中各生化指标保持相对稳定的状态，机体代谢才能正常进行，从而获得较好的生产性能[14]，因此血液或血清生化指标可作为反映机体生理状态与健康情况的重要指标。血清蛋白、尿素氮含量和谷丙转氨酶活性是反映肉鸡机体蛋白质代谢水平和的常用指标。血清总蛋白和白蛋白含量可反映机体对蛋白质的消化状况和机体免疫力，血清蛋白质是血液的重要组成部分，它不仅反映机体的营养状况，还有维持体液的胶体渗透压，并发挥离子运转、免疫及修补组织等作用[15]。良好的营养状况可使血清总蛋白和白蛋白含量维持在一个较高水平，二者含量升高表明机体代谢活动旺盛[16]。尿素氮是反映家禽氮代谢一个重要的指标，它是蛋白质代谢后的产物，其浓度可以比较准确地反映动物体内蛋白质代谢和氨基酸之间的平衡状况[17]，尿素氮浓度越低，说明机体蛋白质代谢越好[18]。唐志刚等[19]研究发现益生菌显著降低了肉鸡前期尿素氮浓度，也在一定程度上提高了血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量，说明益生菌对机体蛋白质的代谢有调节作用。刘小龙等[20]研究发现，在AA肉鸡饲粮中单独或者联合添加抗菌肽或合生素（由植物乳杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母和壳寡糖组成）都能显著提高血清总蛋白和白蛋白含量，降低谷丙转氨酶活性。

养分表观利用率的提高说明肉仔鸡吸收饲粮中的各养分（蛋白质、脂肪和糖类）的能力得到了提升，所以对血清总蛋白和白蛋白的含量具有提高作用，并且能在一定程度上降低尿素氮浓度和谷丙转氨酶活性。本试验结果表明，不同比例的复合益生菌制剂均显著提高了肉仔鸡42日龄血清总蛋白含量，血清白蛋白含量、谷丙转氨酶活性和尿素氮浓度虽与对照组差异不显著，但在数值上均高于对照组。这说明机体蛋白质的代谢可以被复合益生菌制剂所调节，血清总蛋白和白蛋白含量的上升以及谷丙转氨酶活性和血清尿素氮浓度的下降，可能是由于饲喂复合益生菌制剂可以平衡肠道的微生物群，降低肠道pH，同时还能产生微生物蛋白，分泌蛋白酶；枯草芽孢杆菌基因工程菌所分泌的抗菌肽，在一定程度上也能够改善肉仔鸡胃

肠道的消化酶活性，提高肉仔鸡蛋白质与氨基酸的利用率，使体内蛋白质的合成代谢作用加强[21]。这与陈静等[22]在基础饲粮中添加复合微生态制剂能够显著提高肉鸡血清总蛋白含量，同时在一定程度上降低了肉鸡血清尿素氮浓度的研究结果一致。

3.3　复合益生菌制剂对肉仔鸡肠道黏膜形态的影响

肠道是肉仔鸡对营养物质的消化、吸收的重要器官，小肠绒毛高度、隐窝深度和绒腺比的变化是反映消化道对营养物质消化和吸收能力的重要指标，所以小肠黏膜形态对养分表观利用率有重要的影响。绒毛高度是细胞增殖的结果，绒毛高度越高，越利于小肠对营养物质的吸收；隐窝即肠腺，其深度反映细胞的生成率，隐窝越浅，细胞发育越成熟[23]；绒腺比则综合反映小肠的功能状况，绒腺比下降，肠道的吸收能力减弱，绒腺比上升，表明黏膜结构改善，对营养物质的消化和吸收能力增强[24]。祁凤华等[25]研究发现，在基础饲粮中添加枯草芽孢杆菌和嗜酸乳杆菌制剂均能显著降低十二指肠、空肠、回肠隐窝深度，显著提高绒腺比。张彩凤等[26]研究发现，在基础饲粮中添加1 000 mg/kg由乳酸菌和酵母菌组成的复合菌制剂可使肉仔鸡的空肠绒毛高度和绒腺比显著升高，改善肠道黏膜形态，利于维持肠道黏膜形态健康。

本试验结果显示，Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅳ组十二指肠、空肠和回肠的绒毛高度、隐窝深度和绒腺比差异不显著，但均优于对照组。其原因可能是枯草芽孢杆菌为需氧菌，在前胃肠道氧气较多，能够使其增殖，分泌抗菌肽，枯草芽孢杆菌随着小肠后移，氧气稀薄，停止增殖，抗菌肽分泌减少，其作用也逐渐减弱，所以对十二指肠的作用大于空肠和回肠[27]。复合益生菌制剂随着饲粮一同进入消化道后，除了帮助机体分解和利用饲粮中的营养物质之外，还能不断刺激小肠黏膜，促进小肠黏膜的生长发育，增加绒毛高度；此外，复合益生菌还能改善肠道黏液分泌，增强肠道上皮细胞的紧密连接，调节肠道上皮细胞增殖与分化，修复受损肠道，降低隐窝深度，从而达到提高绒腺比的目的[28]；最后，当复合益生菌进入体内后通过消耗肠腔氧气、竞争抑制和产生代谢产物等作用方式抑制有害菌在胃肠道内的增殖，从而避免有害

菌对肠道黏膜的损害，维持良好的肠道黏膜形态结构和完善肠道屏障功能[29]。Lam等[30]研究结果显示益生菌能通过诱导表皮生长因子受体的磷酸化水平来促进受损肠道的恢复，还能通过调节丁二胺、精胺等聚胺类物质的分泌和鸟氨酸脱羧酶的基因表达来促进肠道上皮细胞的增殖与分化。本试验中，饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂均可改善肉仔鸡小肠黏膜形态，具体作用机制还需进一步的研究与探讨。

4　结　论

① 饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂均可显著提高肉仔鸡对干物质、粗蛋白质、粗脂肪和钙的养分表观利用率，其中III组肉仔鸡对饲粮中养分的表观利用率最高。

② 饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂均可显著提高 42 日龄肉仔鸡血清总蛋白含量。

③饲粮中添加不同配比的复合益生菌制剂均可不同程度地改善肉仔鸡十二指肠、空肠和回肠的绒毛长度、隐窝深度和绒腺比。

参考文献：

[1] 赵朋超,王建华,权春善,等.枯草芽孢杆菌抗菌肽生物合成的研究进展[J].中国生物工程杂志,2010(10):108-113.

[2] 孙锡凤.海洋红酵母对肉鸡生产性能、屠体性能及养分表现利用率的影响[D].硕士学位论文.邯郸:河北工程大学,2016.

[3] 赵建文,周明东,周霞等.微生态制剂对肉鸡代谢和免疫系统的影响[J].中国兽医学报,2012(02):216-219.

[4] 栾超.利用 SUMO 融合技术在枯草芽孢杆菌中重组表达抗菌肽 cathelicidin-BF 及其生物学活性研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2014.

[5] 黄福佳.WB800N-CC31 工程菌发酵产物对大鼠生长、消化、肠道菌群及免疫的影响[D].硕士学位论文.大庆:黑龙江八一农垦大学,2016.

[6] 任善茂,陈桂银.饲料分析与检测[M].2 版.北京:中国农业大学出版社,2008.

[7] 高权利,赵西莲,徐正平,等.不同日粮组成对肉仔鸡养分表观代谢率的影响[J].动物科学与动物医学,2003,20(2):55-56.

[8] HOOPER L V,MACPHERSON A J.Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota[J].Nature Reviews Immunology,2010,10(3):159.

[9] 孙锡风,蒋万春,白莹,等.复合益生菌对肉鸡生产性能、屠体性能及养分表观利用率的影响[J].中国饲料,2017(4):17-21.

[10] MOUNTZOURIS K C,TSITRSIKOS P,PALAMIDI I,et al.Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility,plasma immunoglobulins,and cecal microflora composition[J].Poultry Science,2010,89(1):58.

[11] ANABE K,KAGEYAMA Y,MORIMOTO T,et al.Improved production of secreted heterologous enzyme in *Bacillus subtilis* strain MGB874 via modification of glutamate metabolism and growth conditions[J].Microbial Cell Factories,2013,12(1):1-10.

[12] 李卫芬,白洁,李雅丽,等.枯草芽孢杆菌对肉鸡肉品质、养分消化率及血清生化指标的影响[J].中国兽医学报,2014,34(10):1682-1685.

[13] 朱志明,朱旺明,蓝汉冰,等.酿酒酵母营养调控功能及其在水产饲料中的应用研究进展[J].动物营养学报,2014,26(12):3550-3560.

[14] 侯振平,吴端钦,蒋桂韬,等.不同蛋白酶对肉鸡生长性能、血清生化指标和抗氧化功能的影响[J].饲料研究,2017(14):13-17.

[15] 李金魁,陈东红.黄牛血清蛋白质含量的实验室测定[J].黄牛杂志,2002(3):22-23.

[16] DHANALAKSHMI S,DEVI R S, SRIKUMAR R,et al.Protective effect of Triphala on cold stress-induced behavioral and biochemical abnormalities in rats[J]. 药学杂志,2007,127(11):1863-1867.

[17] 姚淑兰,张爱忠,姜宁,等.益生素对育成期贵妃鸡养分利用率、血清生化指标及肠道微生物

区系的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2009(9):113-115.
[18] 亓秀晔,穆熙军,刘秀侠,等.复合益生菌对冷应激肉鸡血清生化指标的影响[J].饲料与畜牧(新饲料),2017(5):48-50.
[19] 唐志刚,王俊峰,温超,等.益生菌对肉鸡生产性能、免疫器官指数和血清指标的影响[J].江苏农业科学,2010(4):208-210.
[20] 刘小龙,乔家运,范寰,等.抗菌肽、合生素对 AA 肉鸡血清生化指标和肠道菌群的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2017(5):111-114.
[21] 孔路军,郑雅文,赖长华,等.EM 和酸化剂配合添加对肉仔鸡消化酶活性和血液生化指标及钙磷代谢的影响[J].山东家禽,2003(6):10-13.
[22] 陈静,谢全喜,刘乃芝,等.复合微生态制剂与饲用抗生素对肉鸡血清生化指标和肠道酶活性的影响[J].畜牧与饲料科学,2012,33(3):15-18.
[23] 张晓宏,孙长颢.断乳后饲料构成对大鼠肝脏 *CPT*-Ⅰ mRNA 表达影响[J].中国公共卫生,2006，22（5）:563-565.
[24] 林谦,戴求仲,宾石玉,等.饲粮添加益生菌与酶制剂对黄羽肉鸡生长性能的影响及相关机理[J].动物营养学报,2012,24(10):1955-1965.
[25] 祁凤华,杨帆,马红,等.枯草芽孢杆菌与嗜酸乳杆菌对黄羽肉鸡小肠黏膜形态和免疫器官指数的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2015(19):129-131.
[26] 张彩凤,王晓翠,张海军,等.乳酸菌和酵母菌复合制剂对肉仔鸡生长性能、屠宰性能和肠道健康的影响[J].动物营养学报,2017,29(4):1248-1256.
[27] 宦海琳,白建勇,周维仁,等.抗菌肽对仔猪血清生化指标、肠黏膜形态结构及空肠上皮紧密连接蛋白基因相对表达量的影响[J].动物营养学报,2015,27(12):3797-3804.
[28] 王圣,李绍钰.家禽肠道黏膜形态结构及其调控的研究进展[J].动物营养学报,2013,25(4):699-704.

[29] LETELLIER A,MESSIER S,LESSARD L,et al.Assessment of various treatments to reduce carriage of Salmonella in swine[J].Canadian Journal of Veterinary Research,2000,64(1):27.

[30] LAM E K,YU L,WONG H P,et al.Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG enhances gastric ulcer healing in rats[J].European Journal of Pharmacology,2007,565(1/2/3):171-179.

Effects of Compound Probiotics on Nutrient Apparent Availability, Serum Biochemical Indexes and Intestinal Mucosa Morphological Structure of Broilers

XIE Wenhui JIANG Ning WANG Xin ZHANG Aizhong*

（*College of Animal Science and Veterinary Medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing* 163319, *China*）

Abstract: This experiment was conducted to determine the effects of different proportions of compound probiotics on nutrient apparent availability, serum biochemical indexes and intestinal mucosa morphological structure of broilers. A total of 320 healthy 1-day-old male arbor acres (AA) broilers were randomly divided into 4 groups. Each group has 4 replicates and each replicate included 20 broilers. Group Ⅰ was control group, and broilers in this group were fed a basal diet. Groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ were experimental groups, and broilers in these groups were fed the basal diet+1 000 mg/kg compound probiotics, and the *Bacillus subtilis*:*Saccharomyces cerevisiae*:*Lactobacillus acidophilus*:*Bifidobacterium lactis* in the compound probiotics was 2:1:1:1, 1:2:1:1 and 1:1:1.5:1.5, respectively. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) The dry matter, crude protein, ether extract and calcium apparent availability of groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ was significantly higher than that of control group (P<0.05). 2) At the age of 42 days, the content of serum total protein of groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ was significantly higher than that

*Corresponding author, professor, E-mail: aizhzhang@sina.com （责任编辑 菅景颖）

of control group (P<0.05). 3) The villus height, crypt depth and villus height/crypt depth in duodenum, jejunum and ileum of groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ were better than those of control group (P>0.05). Therefore, adding different proportion of compound probiotics in the basal diet can improve the nutrient apparent availability, serum biochemical indexes and intestinal mucosa morphological structure.

Key words: compound probiotics; nutrient apparent availability; serum biochemical indexes; intestinal mucosa morphological structure; broilers